

论著 · 临床研究

双黄连联合哌拉西林/他唑巴坦或头孢哌酮/舒巴坦 对广泛耐药鲍曼不动杆菌的抑菌分析^{*}

马冬梅,陶庆春[△],齐宏伟

(北京中医药大学第三附属医院检验科,北京 100029)

摘要:目的 探讨双黄连粉针剂与哌拉西林/他唑巴坦或头孢哌酮/舒巴坦联合用药对广泛耐药鲍曼不动杆菌的体外抑菌效果。方法 测定不同浓度的双黄连、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦或组合对 30 株临床分离广泛耐药鲍曼不动杆菌的最低抑菌浓度(MIC)、部分抑菌浓度(FIC)指数。以 FIC 指数判定联合用药的效果。结果 双黄连联合哌拉西林/他唑巴坦作用后,无显示为协同作用的菌株,显示为相加作用的菌株占 16.7%;显示为无关作用的菌株占 83.3%;无显示为拮抗作用的菌株。双黄连联合头孢哌酮/舒巴坦作用后,显示为协同作用的菌株占 23.3%,显示为相加作用的菌株占 73.3%,显示为无关作用的菌株占 3.3%,无显示为拮抗作用的菌株。结论 双黄连与哌拉西林/他唑巴坦联合使用,对广泛耐药的鲍曼不动杆菌多数表现为无关作用,而双黄连与头孢哌酮/舒巴坦联合表现出的协同作用和相加作用比例较高,对广泛耐药鲍曼不动杆菌的体外联合抑菌作用较好。

关键词:部分抑菌浓度; 广泛耐药鲍曼不动杆菌; 联合抑菌作用; 双黄连

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.09.020

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2018)09-1091-04

文献标识码:A

In vitro antibacterial study of Shuanghuanglian combined with piperacillin/tazobactam or cefoperazone/sulbactam for extensively drug resistant Acinetobacter baumannii^{*}

MA Dongmei, TAO Qingchun[△], QI Hongwei

(Department of Clinical Laboratory, Beijing University of Chinese Medicine Third Affiliated Hospital, Beijing 100029, China)

Abstract: Objective To investigate the bacteriostasis effect of combination of Shuanghuanglian powder with piperacillin/tazobactam or cefoperazone/sulbactam for extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in vitro. **Methods** The minimum inhibitory concentration (MIC) and partial inhibitory concentration (FIC) index of 30 clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* were measured with different concentrations of Shuanghuanglian, piperacillin/tazobactam, cefoperazone/sulbactam or combination. The effect of combined medication was determined by FIC index. **Results** After shuanghuanglian combined with piperacillin/tazobactam, no strain showed synergistic effect; 16.7% of the strains showed additive effect; 83.3% of the strains showed irrelevant effect; no strain showed antagonistic effect. After Shuanghuanglian combined with cefoperazone/sulbactam, 23.3% of the strains showed synergistic effect; 73.3% of the strains showed additive effect; 3.3% of the strains showed irrelevant effect, no antagonistic effect was shown. **Conclusion** The antibacterial effects of Shuanghuanglian and piperacillin/tazobactam were mostly irrelevant, while the antibacterial effect of Shuanghuanglian and cefoperazone/sulbactam are mostly synergistic and additive effect, which had better antibacterial effect to *Acinetobacter baumannii* in vitro.

Key words: fractional inhibitory concentration; extensively drug-resistant; *Acinetobacter baumannii*; combined antibacterial effect; shuanghuanglian

鲍曼不动杆菌广泛存在于自然界、医院环境及人体皮肤等部位,抵抗消毒剂的能力强,容易出现院内

感染流行。随着近年来抗菌药物的大量使用,鲍曼不动杆菌耐药率增高,其中广泛耐药株的检出率也呈不

* 基金项目:北京中医药大学自主选题项目(2016-JYB-JSMS-083)。

作者简介:马冬梅,女,副主任检验师,主要从事微生物相关研究。 △ 通信作者, E-mail:taoqc@sohu.com。

本文引用格式:马冬梅,陶庆春,齐宏伟. 双黄连联合哌拉西林/他唑巴坦或头孢哌酮/舒巴坦对广泛耐药鲍曼不动杆菌的抑菌分析[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(9):1091-1094.

断上升趋势,研究抗感染对策目前仍是待解决的难题。对于广泛耐药鲍曼不动杆菌感染,临床常采用 2 种或 3 种抗菌药物联合治疗,但是对中药与抗菌药物的联合应用效果尚缺乏实验依据支持。双黄连粉针剂为中药制剂,具有辛凉解表、清热解毒的功效,可能有一定抗菌作用。哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮/舒巴坦均为临床治疗鲍曼不动杆菌常用抗菌药物。本研究通过体外抑菌试验探讨了双黄连与哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦联合使用对 30 株临床分离的广泛耐药鲍曼不动杆菌的体外抑菌效果,以期为中西药联合应用治疗广泛耐药鲍曼不动杆菌感染开辟新思路,为临床合理用药提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 菌株来自于本院临床分离的鲍曼不动杆菌,菌株均经 BD-100 全自动微生物鉴定仪鉴定确认,然后进行药敏试验,选出 30 株广泛耐药株作为试验菌株。试验菌株的药敏结果显示,对青霉素类、 β -内酰胺/ β -内酰胺抑制剂类、头孢菌素类、氨基糖苷类、喹诺酮类、碳青霉烯类、四环素类和复方磺胺甲噁唑均耐药,质控菌株为大肠埃希氏菌 ATCC25922。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 Phoenix100 自动微生物鉴定药敏分析仪(BD 公司)、比浊仪(BD 公司)、电热恒温培养箱以及 1 000 μ L、200 μ L 微量加样器各 1 个。

1.2.2 培养基 血平板(英国 Oxoid 公司)、M-H 肉汤培养基(英国 Oxoid 公司)、M-H 琼脂培养基(英国 Oxoid 公司)。

1.2.3 试验药物 双黄连粉针剂(哈药集团中药二厂)、头孢哌酮/舒巴坦(2:1, 辉瑞制药公司)、哌拉西林钠/他唑巴坦钠(石药集团中诺药业有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 试验菌液配制 分别取经鉴定并分离纯化的 30 株广泛耐药鲍曼不动杆菌菌落,溶于 5 mL 生理盐水,用比浊仪校正浓度至 0.5 麦氏浊度,再用 M-H 肉汤稀释 10 倍备用,此时细菌浓度约为 1.5×10^7 CFU/mL。

1.3.2 最低抑菌浓度(MIC)测定 分别配制 30 组双黄连、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦药物原液,采用试管倍比稀释法分别将 3 种药物配制成一

系列稀释液,将各浓度药液加入试管,每管 1 mL,然后每管加入配制的试验菌液 50 μ L;同时做空白和阳性的对照,于 37 °C 培养 24 h 后观察,测定 30 株菌对双黄连、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦的 MIC。

1.3.3 联合用药试验 根据 30 株试验菌株对双黄连、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦的 MIC,分别取试验药物对试验菌株 MIC 的 2 倍为最高稀释浓度,按倍比稀释法各自配制 10 个系列稀释浓度,将配好的不同浓度的双黄连、哌拉西林/他唑巴坦(甲药)、头孢哌酮/舒巴坦(乙药),按棋盘法设计将双黄连+哌拉西林/他唑巴坦、双黄连+头孢哌酮/舒巴坦两两组合加入试管中,每种药物各 0.5 mL。分别配制上述两两组合药物 30 组,加入 30 株试验菌液 50 μ L,37 °C 培养过夜,选择最佳组合效应时两药联用时各自的 MIC 值($\text{MIC}_{\text{甲药联合}}$ 和 $\text{MIC}_{\text{乙药联合}}$),单独用药时的 MIC($\text{MIC}_{\text{甲药单用}}$ 和 $\text{MIC}_{\text{乙药单用}}$),记录并计算部分抑菌浓度(FIC)指数。

1.3.4 结果判读 $\text{FIC} = \text{MIC}_{\text{甲药联合}} / (\text{MIC}_{\text{甲药单用}} + \text{MIC}_{\text{乙药联合}}) / \text{MIC}_{\text{乙药单用}}$,计算 FIC 指数。FIC 指数 ≤ 0.5 的为协同作用, FIC 指数为 $> 0.5 \sim 1$ 的是相加作用, FIC 指数为 $> 1 \sim 2$ 的是无关作用, FIC 指数 > 2 的为拮抗作用。

2 结 果

2.1 药物单用以及联用的 MIC 值 30 株试验菌株对双黄连、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦单用以及联用的 MIC 值见表 1。根据药物单用以及联用的 MIC 值,绘制箱线图进行统计分析,双黄连单用的 MIC 范围为 6.25~25.00 mg/mL, MIC_{50} 为 12.50 mg/mL;与哌拉西林/他唑巴坦联用 MIC 范围 6.25~12.50 mg/mL, MIC_{50} 为 12.50 mg/mL;与头孢哌酮/舒巴坦联用 MIC 范围 3.12~12.50 mg/mL, MIC_{50} 为 6.25 mg/mL;联用比单用的 MIC 值有所降低,与头孢哌酮/舒巴坦联用 MIC 值降低更为明显。哌拉西林/他唑巴坦单用 MIC 范围 256~512 μ g/mL, MIC_{50} 为 256 μ g/mL, 联用 MIC 范围 128~512 μ g/mL, MIC_{50} 为 256 μ g/mL。头孢哌酮/舒巴坦单用 MIC 范围 128~256 μ g/mL, MIC_{50} 为 256 μ g/mL, 联用 MIC 范围 32~64 μ g/mL, MIC_{50} 为 64 μ g/mL, 联用的 MIC₅₀ 为单用的 1/4。

表 1 双黄连、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦单用以及联用的 MIC

菌株序号	双黄连单用 (mg/mL)	头孢哌酮/舒巴坦 单用(μ g/mL)	哌拉西林/他唑巴坦 单用(μ g/mL)	双黄连+头孢哌酮/舒巴坦 (mg/mL, μ g/mL)	双黄连+哌拉西林/他唑巴坦 (mg/mL, μ g/mL)
1	6.25	128	256	3.12, 32	6.25, 256
2	6.25	128	256	3.12, 64	6.25, 256
3	6.25	256	256	3.12, 64	6.25, 256
4	6.25	256	512	3.12, 64	6.25, 256
5	6.25	128	512	3.12, 32	6.25, 512
6	6.25	256	512	3.12, 64	6.25, 512

续表 1 双黄连、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦单用以及联用的 MIC

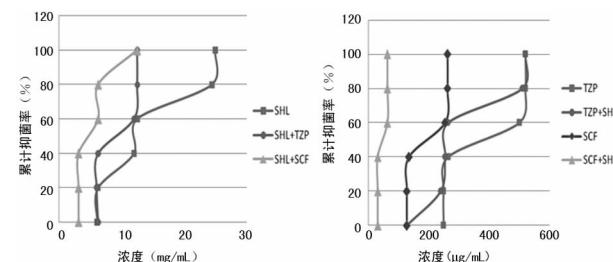
菌株序号	双黄连单用 (mg/mL)	头孢哌酮/舒巴坦 单用(μg/mL)	哌拉西林/他唑巴坦 单用(μg/mL)	双黄连+头孢哌酮/舒巴坦 (mg/mL, μg/mL)	双黄连+哌拉西林/他唑巴坦 (mg/mL, μg/mL)
7	6.25	256	256	3.12, 64	6.25, 256
8	6.25	256	256	3.12, 32	6.25, 256
9	6.25	128	512	6.25, 32	6.25, 512
10	12.50	128	512	3.12, 32	12.50, 512
11	12.50	128	256	6.25, 64	12.50, 256
12	12.50	128	256	3.12, 32	6.25, 256
13	12.50	128	256	6.25, 64	12.50, 256
14	12.50	128	256	3.12, 32	6.25, 128
15	12.50	256	256	6.25, 64	6.25, 256
16	12.50	256	256	6.25, 32	6.25, 128
17	12.50	256	256	6.25, 64	12.50, 256
18	12.50	256	512	6.25, 64	12.50, 512
19	12.50	128	512	3.12, 32	6.25, 512
20	12.50	256	512	6.25, 64	12.50, 512
21	12.50	256	512	3.12, 64	12.50, 512
22	12.50	256	256	6.25, 64	6.25, 256
23	25.00	128	256	12.50, 32	12.50, 256
24	25.00	256	256	6.25, 32	12.50, 256
25	25.00	256	512	12.50, 32	12.50, 512
26	25.00	128	512	6.25, 64	12.50, 256
27	25.00	256	512	12.50, 64	12.50, 512
28	25.00	256	512	12.50, 64	12.50, 256
29	25.00	256	512	6.25, 64	12.50, 256
30	25.00	256	512	12.50, 64	12.50, 512

2.2 两药联合应用 FIC 指数 两药联合应用 FIC 指数分布见表 2。双黄连联合哌拉西林/他唑巴坦使用, 协同作用为 0, 相加作用占 16.7%, 无关作用占 83.3%, 拮抗作用为 0。双黄连联合头孢哌酮/舒巴坦使用, 协同作用占 23.3%, 相加作用占 73.3%, 无关作用占 3.3%, 拮抗作用为 0。

表 2 联合用药 30 株广泛耐药鲍曼不动杆菌 FIC 指数的分布 (n)

药物组合	FIC 指数			
	≤0.5	>0.5~1	>1~2	>2
双黄连联合哌拉西林/他唑巴坦	0	5	25	0
双黄连联合头孢哌酮/舒巴坦	7	22	1	0

2.3 浓度-累积抑菌百分率曲线 双黄连、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦单用和联合应用对 30 株广泛耐药鲍曼不动杆菌的浓度-累积抑菌百分率曲线, 见图 1。双黄连与哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦联合后, 浓度-累积抑菌百分率曲线均发生了一定程度的左移; 尤其双黄连与头孢哌酮/舒巴坦联合, 曲线左移更为明显, 说明联合用药有相互增强作用。



注: SHL 表示双黄连; TZP 表示哌拉西林/他唑巴坦; SCF 表示头孢哌酮/舒巴坦

图 1 双黄连联用的浓度-累积抑菌百分率曲线

3 讨 论

随着抗菌药物的大量使用, 鲍曼不动杆菌耐药菌株检出率逐年上升, 其耐药机制复杂^[1-3], 给临床抗感染治疗带来很大困难。鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识指出, 耐药鲍曼不动杆菌根据药敏试验的结果选用头孢哌酮/舒巴坦、氨苄西林/舒巴坦或碳青霉烯类抗菌药物, 可联合应用氨基糖苷类抗菌药物或氟喹诺酮类抗菌药物等, 主张采用联合用药的方案进行治疗^[4]。

中药因具有低残留、不易诱导细菌耐药等优点正逐渐被临床广为应用, 双黄连粉针剂由金银花、连翘、黄芩三味中药组成, 具有清热解毒、辛凉解表的功效,

现代药理学研究表明双黄连制剂具有广谱的抗菌作用^[5-6],并且双黄连与抗菌药物联用也成为新的研究应用方向。张伟等^[7]将双黄连与氯唑西林钠联用,研究表明对金葡球菌耐药株具有较好的体外抗菌活性。杨嘉永等^[8]将双黄连与左氧氟沙星联合应用后,双黄连与左氧氟沙星联合用药 FIC 指数范围为 0~1,体外联合抗菌作用以相加为主。

本研究中,双黄连联合哌拉西林/他唑巴坦的 FIC 指数显示,对广泛耐药鲍曼不动杆菌联合抑菌以无关作用为主,少数表现为相加作用,无拮抗作用。双黄连与哌拉西林/他唑巴坦单用与联合应用浓度-累积抑菌百分率曲线结果显示,两药联合应用与单用相比,累积抑菌曲线在一定浓度内轻度左移,表明双黄连与哌拉西林/他唑巴坦有联合抑菌作用,但抑菌效果增强较弱。双黄连联合头孢哌酮/舒巴坦 FIC 指数显示,对广泛耐药鲍曼不动杆菌联合抑菌以相加作用和协同作用为主,无拮抗作用。双黄连与头孢哌酮/舒巴坦单用与联合应用浓度-累积抑菌百分率曲线结果显示,两药联合应用与单用相比,累积抑菌曲线明显左移,表明双黄连与头孢哌酮/舒巴坦联合应用抑菌作用显著增强,体外联合抑菌效果较好。哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮/舒巴坦同为含 β -内酰胺抑制剂类抗菌药物,有多项研究表明,头孢哌酮/舒巴坦具有明显的抗菌活性^[9-12]。舒巴坦是一种半合成的 β -内酰胺酶抑制剂,它可以抑制多种 β -内酰胺酶,而且可以直接作用于细菌的青霉素结合蛋白 PBP2,从而显示出明显的抑菌作用,舒巴坦的抑菌效果明显好于其他 β -内酰胺酶抑制剂。本次试验也表明了双黄连与头孢哌酮/舒巴坦联合用药优于与哌拉西林/他唑巴坦联合用药的抑菌效果。总之,2 种联合方案在体外对 30 株广泛耐药鲍曼不动杆菌均显示了不同程度的抑菌作用,尤其与头孢哌酮/舒巴坦联合应用抑菌效果显著增强。中西药联合应用降低 MIC 的抑菌机制有可能与干扰细菌某个组分合成、抑制细菌的外排泵等因素有关^[13],具体抑菌机制和临床应用效果尚需进一步研究。

参考文献

- [1] 王辉,郭萍,孙宏莉,等. 碳青霉烯类耐药的不动杆菌分子(上接第 1090 页)
与氯吡格雷对急性冠脉综合征患者经皮冠脉动脉介入术后血小板抑制效果的比较[J]. 现代生物医学进展,2015,15(18):3462-3465.
- [13] 韩庆,沈德良,王勃,等. 非 ST 段抬高急性冠脉综合征经皮冠状动脉支架植入术后替格瑞洛使用 18 个月的临床观察[J]. 临床心血管病杂志,2016,32(6):630-632.
- [14] 张玉惠,刘俊,陈金国,等. 替格瑞洛与氯吡格雷对急性冠状动脉综合征患者血小板聚集的对比分析[J]. 蚌埠医学

- 流行病学及其泛耐药的分子机制[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(12):1062-1073.
- [2] 李丹鹤,马瑞芝. 鲍曼不动杆菌医院感染的临床特点及耐药分析[J]. 实用医技杂志,2011,18(3):279.
- [3] 朱德妹,张婴元,汪复,等. 2008 年上海地区细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2009,9(6):401-411.
- [4] 陈佰义,何礼贤,胡必杰,等. 中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识[J]. 中华医学杂志,2012,92(2):76-85.
- [5] 孙效珍,解建设,解鲁豫. 双黄连的药理与临床应用[J]. 黑龙江医药,2006,19(1):54-55.
- [6] 田乐,周伟,狄留庆,等. 双黄连口服液中主要活性成分体外抗菌效应相关性研究[J]. 南京中医药大学学报,2012,28(1):89-91.
- [7] 张伟,包俊. 双黄连联合氯唑西林钠对金葡球菌耐药株的抗菌作用研究[J]. 中国中医药科技,2013,20(3):245-246.
- [8] 杨嘉永,徐和平,孙洲亮. 双黄连联合左氧氟沙星对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的体外抗菌活性[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(14):1190-1192.
- [9] 李娅娟,刘蓬蓬,李萍,等. 头孢哌酮/舒巴坦对革兰阴性菌的抗菌活性[J]. 中华医院感染学杂志,2006,16(5):554-556.
- [10] HIGGINS P G, WISPLINGHOFF H, STEFANIK D, et al. In vitro activities of the beta-lactamase inhibitors clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam alone or in combination with beta-lactams against epidemiologically characterized multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(5): 1586-1592.
- [11] LEVIN A S, LEVY C E, MANRIQUE A E, et al. Severe nosocomial infections with imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* treated with ampicillin/sulbactam [J]. Int J Antimicrob Agents, 2003, 21(1): 58-62.
- [12] LEVIN A S. Multiresistant *acinetobacter* infections: a role for sulbactam combinations in overcoming an emerging worldwide problem[J]. Clin Microbiol Infect, 2002, 8(3): 144-153.
- [13] 黄瑞玉,穆小萍,柏彩英,等. 连翘对多药耐药鲍曼不动杆菌主动外排泵编码基因 adeB 的影响[J]. 中国病原生物学杂志,2011,6(2):111-114.

(收稿日期:2017-09-16 修回日期:2017-12-06)

院学报,2016,41(6):733-735.

- [15] 高鹏,仲宁,畅君毅. 替格瑞洛与氯吡格雷对急性冠脉综合征患者 PCI 术后血小板功能和炎症因子的影响[J]. 中国循证心血管医学杂志,2015,7(6):763-766.
- [16] 周登峰,石焱. 氯吡格雷及替格瑞洛治疗急性冠状动脉综合征 1 年临床疗效对比[J]. 中国临床医学,2016,23(3):291-294.

(收稿日期:2017-10-16 修回日期:2017-12-25)